

**Untersuchungen über das Verhalten der
Milchsäuredehydrase, Aldolase,
Glutaminsäuredehydrase und des
Phosphat-übertragenden Fermentes I in Leukozyten
bei Gesunden und Leukämikern**

Wolfgang Wigge

1957.

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

Untersuchungen über das Verhalten der
Milchsäuredehydrase, Aldolase, Glutaminsäuredehydrase
und des Phosphat-übertragenden Fermentes I
in Leukozyten bei Gesunden und Leukämikern

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Wolfgang Wigge
aus
Langendorf / Schlesien

München 1957

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Priv. Doz. Dr. H. STUHLFAUTH

Correferent: Professor Dr. W. SEITZ

Dekan: Professor Dr. W. BICKENBACH

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 6. 57



INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung

Verzeichnis der Abbildungen

MEINEN ELTERN GEWIDMET

1. Einleitung

1.1. Einleitung zur Einleitung

1.2. Einleitung zur Einleitung

1.3. Einleitung zur Einleitung

1.4. Einleitung zur Einleitung

1.5. Einleitung zur Einleitung

2. Einleitung zur Einleitung

3. Einleitung zur Einleitung

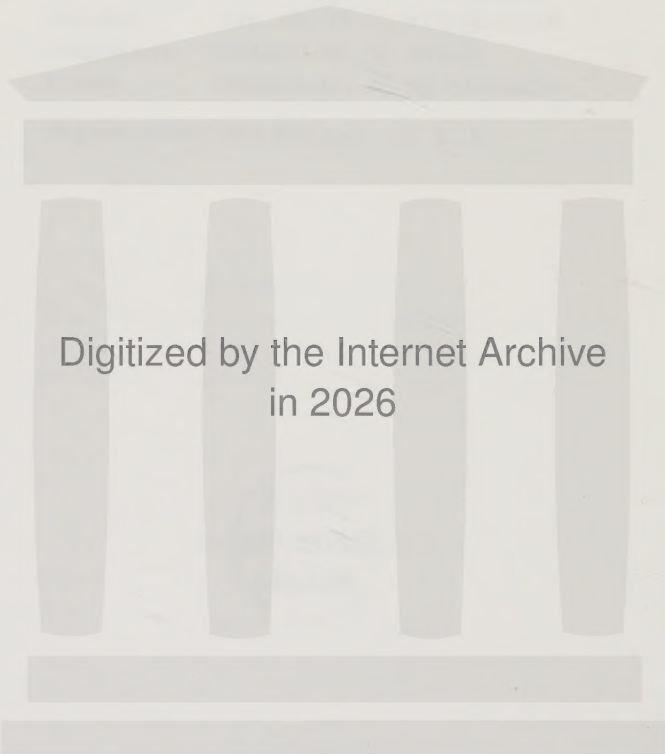
4. Einleitung

5. Einleitung

6. Einleitung

7. Einleitung

8. Einleitung



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung:

Trennungverfahren: Prinzip und Methodik.

A. Zur Methodik

I. Fermentnachweis im Photometer "Eppendorf"

1. Bestimmung der MDH
2. Bestimmung der Aldolase
3. Bestimmung der GSDH
4. Bestimmung des PÜ I

Berechnung der Enzymaktivitäten.

B. Auswertung der Untersuchungen.

Tabellen

Diskussion

Zusammenfassung

Literaturverzeichnis

Lebenslauf

EINLEITUNG

Vor etwa 40 Jahren führte E. Grafe (1) Untersuchungen über den Sauerstoffverbrauch an weissen Blutzellen durch. Seit dieser Zeit ist das Problem des Leukozytenstoffwechsels von zahlreichen Forschern oft und mit den verschiedensten Methoden untersucht worden.

Warburg (2) führte die Manometermethode zur Quantitativen Messung des Stoffwechsels ein und gab den Anstoss für zahlreiche Untersuchungen an tierischen und menschlichen Leukozyten. Die meisten Forscher wollten die eventuellen Unterschiede des normalen und leukämischen Leukozytenstoffwechsels aufdecken. Sie versuchten dann die Frage zu klären, ob die Leukocyten und ihr Stoffwechsel in die von Warburg aufgestellten klassischen Stoffwechseltypen eingereiht werden könnten. Wir können an dieser Stelle über die vielfältigen Versuche früherer Autoren nur kurz berichten.

I. Versuche mit Leukocyten aus menschlichen und tierischen Exsudaten

Lepine und Barral (3) gaben vor etwa 60 Jahren Versuchsergebnisse heraus, aus denen hervorging, dass die Leukocyten glykolytische Aktivität besitzen. 1926/1927 untersuchte Bakkers (4) mit der Mikrogasanalyse Exsudatleukocyten von Kaninchen. Er fand eine hohe aerobe Glycolyse und damit einen malignen tumorenähnlichen Stoffwechseltyp. Schmitz und Glover (5) fanden bei den normalen menschlichen Leukocyten eine extrem hohe aerobe Glycolyse. Die Versuche von Fleischmann und Kubowitz (6) an Gänseblutleukocyten ergaben eine mässige aerobe Glycolyse und eine mässig hohe anaerobe Glycolyse. Bei Kaninchen dagegen lagen beide Werte höher.

1927 fanden Dalland und Isaacs (7), dass reife polymorphkernige Leukocyten bei starker Leukocytose gegenüber Leukocyten aus Normalblut um ca. einen dreifach höheren O_2 Verbrauch haben. Jackson, Parker, Glover (8) erhielten für die Glycolyse von Monozyten der Kaninchenlunge niedrige Werte. 1930 fanden Kemptner und Peschl (9) in sterilen Punktionen aus provozierten menschlichen Hautblasen, dass die darin enthaltenen Leukocyten im Warburgapparat eine hohe aerobe Glycolyse und

anaerobe Glycolyse aufwiesen. Es würde zu weit führen, die umfangreichen Arbeiten von Willstätter und Rhodewald (10) zu besprechen. Dies ist schon an anderer Stelle geschehen (11).

Keibl und Spitzzy (12) untersuchten normale menschliche Leukocyten und fanden hohe aerobe und anaerobe Glycolyse.

Bird, Clements und Becker (13) geben für isolierte menschliche Leukocyten noch geringere Werte an.

Wagner und Mitarbeiter (14) identifizierten verschiedene Zwischenstufen der Glycolyse und wiesen alle Glycolysefermente in Leukocyten nach. Dies wurde ausführlich schon an anderer Stelle besprochen (11). Endlich bewiesen Beck und Valentine, dass die Leukocyten einen vorwiegend aerob-glycolytischen Stoffwechsel haben (15).

II. Versuche an myel. und lymphat. Leukämiezellen

Über die Höhe der Glycolyse der myel. und lymph. Leukämiezellen gingen und gehen zum Teil heute noch die Ansichten weit auseinander. Schmitz und Glover (5) fanden hohe Werte, während andere niedrigere Werte angaben. Bei all diesen Autoren waren die gemessenen Stoffwechselquotienten der chronischen myel. Leukämie höher als bei der chron. lymph. Leukämie. Nach den Ergebnissen von Schmitz nimmt die Glycolyse mit dem Reifegrad der Zellen zu. Beck und Valentine (15) untersuchten normale und leukämische Leukocyten in Homogenaten. Sie stellten fest, dass bei Anwesenheit von Glucose und Hexosediphosphat O_2 -Versuch, Glucoseabnahme und Milchsäurebildung bei normalen Zellen stärker war als bei leukämischen. Der Warburgquotient betrug bei normalen Leukocyten und myel. Leukocyten 10, bei Leukocyten der chron. Lymphadenose 5. Alle Zellformen benötigen zur maximalen Aktivität ATP, DPN, und Cytochrom C. Normale Leukocyten brauchen weniger Cytochrom C als leukämische Zellen und Leukocyten der chron. Lymphadenosen weisen einen höheren Bedarf an DPN auf. Die Ergebnisse von Remmele (16) zeigen folgendes: Normale Leukocyten haben eine mässig hohe aerobe und anaerobe Glycolyse. Myel. Leukocyten weisen ähnliche Ergebnisse auf, während die Glycolyse von Mikromyeloblasten und Lymphocyten aus Blut von akuten und chronischen Lymphadenosen sehr mässig ist.

Aus der dargelegten Literatur mit ihren vielfältigen Ergebnissen ergeben sich folgende Grundforderungen für Untersuchungen auf diesem Gebiet:

Einheitliche Methodik, Untersuchungen an gleicher Zellart und eine möglichst schonende Zellisolierung.

Es ist das Ziel unserer Untersuchungen, das Verhalten der Milchsäuredehydrogenase, Aldolase, Glutaminsäuredehydrogenase und des Phosphat-übertragenden Fermentes I in Leukocyten von Gesunden und Leukämikern zu prüfen.

Das Trennungsverfahren (Prinzip)

Dr. Erhardt (17) führte die Voruntersuchungen zur Trennung durch. Mit Dextranzusatz erreichte er eine starke Beschleunigung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit. Nach längeren Versuchen fand er, dass die Dextranfraktion TDR 205 - II - B - 1 "intrinsic viscosity" $n = 0,40$ (Knoll AG.) bei einer Endkonzentration in Zitratblut von 0,5% zu Erythrozyten-Agglomeration und Senkungsbeschleunigung am besten geeignet ist. Die Leukocyten tendieren schon kurz nach Entnahme aus der Vene und vor allem bei beschleunigter BKS zur Verklumpung. In einer längeren Versuchsreihe fand Dr. Erhardt, dass unter vielen Mitteln Hostocain B in 0,5 %iger Lösung am besten die Leukocytenverklumpung verhindert.

Durchführung der Trennung:

20 ccm Zitratblut werden mit 2 ccm 10 %iger Dextranlösung vermischt. In einer 1 m-langen Glasröhre mit einer lichten Weite von 3,5-5 mm wird das Gemisch im Eisschrank bei einer Temperatur von plus 8 bis plus 10° Celsius aufgestellt und dort 12 Stunden gelassen. Die Leukocyten plus Serum werden von den Erythrozyten getrennt durch Abbrechen der Glasröhre an der Grenze derselben. Dadurch wird eine möglichst genaue und schonende Trennung erreicht.

Voruntersuchungen in unserem Labor (18) führten zu der Vermutung, dass bereits während der Trennung der Leukocyten und Erythrocyten in der Röhre ein Zerfall der Leukocyten eintritt. Dies wurde durch die Tatsache bewiesen, dass das in der Röhre oberhalb der Leukocytenschicht befindliche Serum unmittelbar über den Leukocyten mehr MDH enthielt als im oberen Teil. Um die freigewordenen Fermentmengen mit zu erfassen, werden Leukocyten und Serum nach dem Homogenisieren als Gesamthomogenat getestet. Durch Testen des Serums erhielten wir die Serumwerte, die dann von den erhaltenen Gesamtwerten abgezogen wurden.

A. ZUR METHODIK

Fermentnachweis. (Prinzip)

Nach Warburg und Christian (19) ist es möglich Fermentaktivitäten durch die Änderung der Lichtextinktion des hydrierten Cofermentes $\text{DPN} + \text{H}^+$ im UV zu messen. Bei allen Fermentreaktionen an denen DPN als Coferment beteiligt ist entsteht die Bande des DPNH bei 340nm. Nichthydriertes DPN absorbiert nicht bei diesen Wellenlängen, daher lässt die Oxydation bzw. die Reduktion des DPN bei dieser Wellenlänge sich gut bestimmen. Die Geschwindigkeit der Zu- oder Abnahme der Lichtextinktion ist das Maß für die Fermentaktivität (FE). Diese Messungen wurden am Photometer Eppendorf durchgeführt. Netheler und Bücher haben dieses Gerät für "optische Tests" geschaffen. Bei unseren Versuchen haben wir bei der Schichtdicke 1 cm und einer Wellenlänge von 366 nm gemessen. Diese Wellenlänge zeigt nach Bücher gegenüber einer Wellenlänge von 334 nm einige Vorteile, wie geringere Blindabsorption bei Bestimmungen in gefärbten Präparaten, Verwendung von Glasküvetten und leichter Isolierbarkeit mit Glasfiltern von guter Reinheit.

Methoden der Fermentbestimmung.

Bestimmung der MDH.

Das Ferment MDH (Milchsäuredehydrase) bewirkt die Umwandlung von BTS (Brenztraubensäure) in MS (Milchsäure).



Das Gleichgewicht der Reaktion liegt vollkommen auf der Seite der Milchsäure. DPNH verschwindet während des Reaktionsablaufes und damit verschwindet auch die Lichtabsorption bei 366 nm. Die Geschwindigkeit dieser Abnahme ist das Maß für die Fermentaktivität.

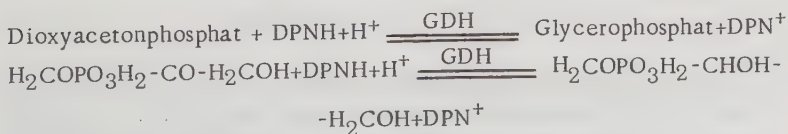
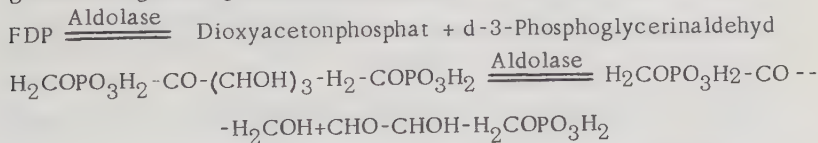
Testlösung:

Serum plus Leuko	0,10 ccm
m/15 Natriumpyrophosphatpuffer PH 8,5 ¹⁾	1,00 ccm
m/10 BTS Na. PH 8,55	0,15 ccm
DPNH ₂ (=C=10)	<u>0,05 ccm</u>
Aqua dest. ad	3,00 ccm

Wir änderten nach Bedarf die Menge des Serums bzw. Leukoplus Serum, da nur in einem bestimmten Bereich der Fermentkonzentration die Geschwindigkeit der Änderung der Zu- oder Abnahme der Lichtschwächung der im Test vorhandenen Fermentmenge proportional ist. Zur Zeit wurde die Reaktion durch Zugabe der fermenthaltigen Lösung gestartet. Die Abnahme der Lichtextinktion wurde 10 Minuten lang in Abständen von je 2 Minuten im Photometer Eppendorf gemessen.

Bestimmung der Aldolase

Fruktose - 1 - 6 diphosphat (FDP) wird durch das Ferment Aldolase in Dioxyacetonphosphat und d-3-Phosphoglycerinaldehyd gespalten. Das im Gewebe enthaltene Ferment Trioseisomerase bewirkt, daß im Gleichgewichtszustand etwa 97 % als Dioxyacetonphosphat vorhanden ist. Das sog. Baranowski-Enzym (Glycerinphosphorsäuredehydrase) reduziert das Dioxyacetonphosphat zu Glycerinphosphorsäure. Das Gleichgewicht liegt zum größten Teil auf der Seite des Glycerophosphates.



- 1) Kubowitz und Ott (20) wiesen nach, daß Pyrophosphat mit PH 8,3 gegenüber Orthophosphat mit PH 7,4 folgenden Vorteil hat: Die Reaktionsgeschwindigkeit bleibt bis zu einem Umsatz des Nucleotids von ca. 80 % konstant. Bei PH 7,4 dagegen nimmt sie schneller ab.

An der Aldolasereaktion ist DPN als Coferment nicht beteiligt. Sie wird daher im Photometer nicht erfaßt. Sie muß deswegen mit der Reaktion Dioxyacetonphosphat Glacerothosphat kombiniert werden. Bei Überschuß von GDH können wir die Aktivität der Aldolase bestimmen.

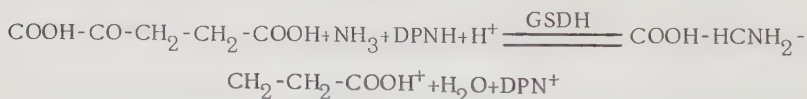
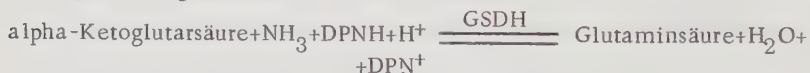
Testlösung:

Serum plus Leuko	0,50 ml
Trilon (=Titriplex III) 1 %	0,10 ml
m/20 FDP	0,10 ml
DPNH 10 mg/ccm	0,05 ml
GDH (10 mg F.E./ccm)	<u>0,01 ml</u>
m/20 Triäthanolpuffer pH 7,4 ad	3,00 ml

Für eventuell vorhandene Schwermetalle, die schon in Spuren die Reaktion hemmen würden, wird Titriplex als Komplexbildner benützt. FDP wird erst zugegeben, wenn die Umwandlung der im Serum vorhandenen BTS in MS abgelaufen ist.

Bestimmung der Glutaminsäuredehydrogenase

Die Verbindung zwischen Kohlehydrat und Eiweißstoffwechsel wird durch die GSDH aufrecht erhalten. GSDH ist der Katalysator für die Umsetzung der Alpha-Ketoglutarinsäure in Glutaminsäure.



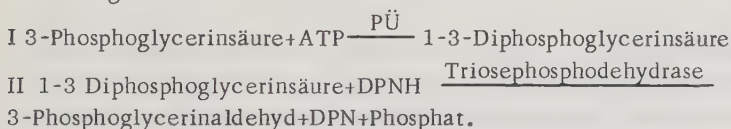
Bei Überschuß von Ammonium-Ionen läuft die reversible Reaktion ganz in Richtung der Aminosäure. Auch bei diesem Test wird erst nach Beendigung des Vorlaufes das wirksame Substrat alpha-Ketoglutarinsäure zugeetzt. Die für die Reaktion notwendigen NH_4^+ -Ionen erhalten wir durch Zusatz von Ammonacetat zur Testlösung.

Testlösung:

Serum plus Leuko	0,50 ml
Trilon 1 ‰	0,10 ml
DPNH (10 mg) ccm	0,05 ml
3 m Ammonacetat	0,05 ml
m/10 alpha-Ketoglutarsaures Na	<u>0,10 ml</u>
m/20 Triäthanolpuffer pH 7,6 ad	2,50 ml

Bestimmung des phosphatübertragenden Fermentes (PÜ I).

Die Bestimmung der Fermentaktivität erfolgt im zusammengesetzten optischen Test nach Bücher (21). Die Reaktionen laufen nach folgender Gleichung ab:



Das Gleichgewicht der Reaktion liegt auf der rechten Seite

Testlösung:

Hydrazin Ph 7,0 m/10 (frisch neutr.)	0,15 ml
DPNH c=10	0,05 ml
ATP 10 mg/ccm (ATP Waldhof)	0,40 ml
MgSO ₄ m/2 in 2 mol KCL	0,10 ml
PGADH (10 mg F.E./ccm)	0,20 ml
Leuko + Serum	0,20 ml
PGSNa	<u>0,05 ml</u>
Trap pH 7,6 mit Trilon 1 ‰ ad	3,00 ml

PGS wird erst nach Beendigung des Vorlaufes im Überschuß zugesetzt und dadurch die Geschwindigkeit der Extinktionsabnahme der PÜ I-Aktivität bestimmt. Außerdem wurde bei jedem Versuch ein Leertest durchgeführt. Auch hier änderten wir nach Bedarf die Menge des Serums bzw. Leuko + Serum. Um die für das Gesamtvolumen vorgeschriebene Anzahl von cm³ einzuhalten, wurde die Menge des Puffers erhöht oder verringert.

Berechnung der Enzymaktivitäten

Berechnungsformel:

$$y \text{ FE} = \frac{100 \times \text{Testvolumen}}{(\text{sek. E} = 100) \times \text{Vol. Homogenat im Test}}$$

$$y \text{ FD} : \frac{L \times 1000}{25} = X : 1.000.000$$

$$y \text{ FE} : 40 \text{ L} = X : 1.000.000$$

$$40 \text{ L} \cdot X = 1.000.000 \cdot y \text{ FE}$$

$$x = \frac{1.000.000 \times y \text{ FE}}{40 \text{ L}} = \text{FE/Mill. Leuko der unverdünnten Suspension.}$$

Versuchsergebnisse

Zur Untersuchung kamen 31 Gesunde und 11 Leukämiker (akute und chron. Myelose, Lymphadenose, Stammzellenleukämie und Myeloblastenleukämie). In vielen Versuchen wurden Soppelbestimmungen durchgeführt. Die Differenz der Einzelwerte der Doppelbestimmungen war nicht größer als 6 - 7 %. Gesunde (Leuko etwa 5 - 6.000) zeigen MDH-Werte von 0,92 bis 2,65 FE, mit einem Mittelwert von 1,54 FE/1 Mill. Leukozyten. Dagegen liegt bei Leukämikern der niedrigste Wert bei 0,12 FE, der höchste bei 1,28 FE. Der Mittelwert für 1 Mill. Leukozyten beträgt 0,64 FE. Es zeigt sich also eine deutliche Verminderung der MDH-Aktivitäten bei Leukämikern. Den niedrigsten Wert für MDH fanden wir bei einer Stammzellenleukämie. Es handelt sich um eine 19-jährige Patientin mit 64.000 Leukozyten, darunter 73 % Paramyeloblasten. Die Patientin befand sich z. Zt. des Versuches seit etwa 14 Tagen in Decortin-Behandlung (15 mg täglich). Der höchste Wert von 1,28 FE fand sich bei einer chron-myel. Leukämie von 17.100 Zellen. Sehr niedrige Werte (0,31 FE) zeigte auch eine akut. lymphatische Leukämie, desgleichen eine Myelobl.-Leukämie. Die Werte der chron.myel. Leukämien liegen sehr dicht beieinander und sind relativ hoch.

Bei Gesunden fanden wir Aldolasewerte von 0,42 FE/Mill. Leukozyten bis 0,06 FE. Mittelwert: 0,166 FE. Auch hier liegen die Werte der Leukämiker etwas niedriger, allerdings nicht in dem Maße wie bei MDH. Überraschend sind die bei einer chron. myel. Leukämie (17.100 Leuko-

zyten) gefundenen Ergebnisse. Hier fanden wir in zwei im Abstand von etwa 4 Wochen aufeinanderfolgenden Untersuchungen unverändert höchste Werte (0,240 und 0,270). Der niedrigste Wert fand sich ebenfalls bei einer chron. myel. Leukämie (124.600 Leukozyten). Er betrug 0,005 FE/ 1 Mill. Leukozyten. Für den Mittelwert der Aldolase bei Leukämikern fanden wir 0,015 FE/ 1 Mill. Leukozyten. Es zeigten sich auch hier geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Leukämieformen. Wie bei MDH fanden sich die höchsten Werte bei einer chron. myel. Leukämie. Die Werte bei Stammzellenleukämie sind nicht so extrem niedrig wie für MDH.

Wir beobachteten weiter einen Abfall des phosphatübertragenden Fermentes (PÜ I) in leukämischen Leukocyten gegenüber Gesunden. Bei Gesunden fand sich ein Höchstwert von 2,66 FE/1 Mill. Leukozyten. Der niedrigste Wert war 0,90 FE. Mittelwert für Gesunde: 1,55 FE/ 1 Mill. Leukozyten. Bei Leukämikern testeten wir den niedrigsten Wert mit 0,13 FE/1 Mill. Leukozyten. Das Maximum lag bei 1,05 FE/1 Mill. Leukozyten. Wenn man die beiden Mittelwerte für PÜ I vergleicht, so ist die Differenz beträchtlich.

Als letztes Ferment testeten wir die Glutaminsäuredehydrase. Hier erhielten wir sehr niedrige FE-Werte. Bei Gesunden war der höchste Wert 0,01 FE/1 Mill. Leukozyten, der niedrigste 0,0012 FE. Als Mittelwert errechnete sich ein Wert von 0,00857 FE/1 Mill. Leukozyten. Bei Leukämikern fanden wir einen Maximalwert von 0,027 FE/1 Mill. Leukozyten, während der niedrigste mit 0,0009 FE/1 Mill. Leukozyten getestet wurde. Der Mittelwert für Leukämiker ergab 0,00850 FE/ 1 Mill. Leukozyten. Daß die errechneten Mittelwerte für Gesunde und Leukämiker fast genau gleich sind, berechtigt bei den sehr niedrigen FE-Aktivitäten nicht zu dem Schluß, daß das Ferment GSDH bei dem gestörten Stoffwechsel der leukämischen Leukocyten nun nicht in Mitleidenchaft gezogen wird. Es hat sich durch diese Versuche ergeben, daß infolge der niedrigen GSDH-Konzentration die Ergebnisse keine sicheren Aussagen über Unterschiede der Fermentaktivität bei Gesunden und Leukämikern erlauben.

Verzeichnis der leukämischen Patienten und Tabellen

- 1) Pat. E, 75 Jahre, lymph. Leukämie, 300.00 Leukocyten, davon 96 % Lymphocyten.
- 2) Pat. St, chron. myel. Leukämie, 181.500 Leukocyten, Behandelt mit Myleran.
- 3) Pat. B, chron. myel. Leukämie, 110.000 Leukocyten, Reichlich Myelocyten, 13 % Myeloblasten.
- 4) Pat. G, Myeloblasten-Leukämie, 37.000 Leukocyten, 89 % Myeloblasten. Behandelt über längere Zeit mit Myleran.
- 5) Pat. R, chron. myel. Leukämie, 17.100 Leukocyten. Behandelt mit Myleran, 4 mg pr. die.
- 6) Pat. M, chron. myel. Leukämie, 124.600 Leukocyten, 11 % Myeloblasten. Behandelt mit Decortin, 40 mg pr. die.
- 7) Pat. L, chron. myel. Leukämie, 131.000 Leukocyten, davon 17 % Promyelocyten. Behandelt mit Myleran, 2 x 1/2 Tbl. täglich. WAR ++.
- 8) Pat. S, akute lymphat. Leukämie, 79 % Lymphocyten, 118.000 Leukocyten. Nach 2-tätiger Arsenbehandlung sehr starker Leukocytenabfall.
- 9) Pat. E, Stammzellenleukämie, 7.100 Leukocyten, 78 % Stammzellen. Behandelt mit Decortin, 40 mg täglich. Lebensalter 25 Jahre.
- 10) Pat. N, 16 Jahre, akute Stammzellenleukämie, 41.800 Leukocyten. 41 % Stammzellen. Behandelt mit Aminopterin, 2 x 1 Tbl. täglich.
- 11) Pat. Sch. 29 Jahre, akute Stammzellenleukämie, 31.200 Leukocyten, davon 73 % Paramyeloblasten. Behandelt mit Decortin, 5 mg.

Die hier angegebenen Leukocytenzahlen wurden am Tage unserer Untersuchungen ausgezählt. 80 % der leukämischen Patienten wurden unbehandelt untersucht. 20 % nach etwa 2-tätiger Behandlung. Bei zwei Patienten wurden Austestungen im Abstand von drei Wochen bzw. einem Monat durchgeführt, um etwaige Behandlungsfolgen mitzuerfassen.

Aldolase

Pat.	Leuko FE/1 Million
Pat. B.	0,31
Pat. H.	0,12
Pat. Hä.	0,21
Pat. E.	0,42
Pat. G.	0,12
Pat. A.	0,18
Pat. Scho.	0,08
Pat. Sche.	0,07
Pat. Ba.	0,06
Pat. S.	0,09
Mittelwert	0,166
Pat. Ba. (myel. Leuk.)	0,061
Pat. G. (myelobl. Leuk.)	0,041
Pat. R. (myel. Leuk.)	0,240
Pat. R. (myel. Leuk.)	0,270
Pat. M. (myel. Leuk.)	0,005
Pat. L. (myel. Leuk.)	0,011
Pat. L. (myel. Leuk.)	0,007
Pat. S. (ak. lymph. Leuk.)	0,082
Pat. E. (Stammzellenleuk.)	0,081
Pat. N. (Stammzellenleuk.)	0,062
Pat. L. (wie 6)	0,091
Pat. Sch. (Stammzellenleuk.)	0,027
Mittelwert	0,015

PÜ I

	Leuko
Pat.	FA/ 1 Million
Pat. H	1,70
Pat. He.	2,33
Pat. A.	2,66
Pat. G.	1,96
Pat. W.	1,70
Pat. M.	0,98
Pat. Hen.	1,01
Pat. S.	1,12
Pat. W.	0,90
Pat. St.	1,13
Mittelwert	1,55

Pat. B.	(myel. Leuk.)	0,30
Pat. G.	(myelob. Leuk.)	0,17
Pat. R.	(myel. Leuk.)	0,13
Pat. R.	(myel. Leuk.)	0,31
Pat. M.	(myel. Leuk.)	1,05
Pat. L.	(myel. Leuk.)	0,82
Pat. L.	(myel. Leuk.)	0,69
Pat. S.	(ak. lymph. Leuk.)	0,26
Pat. E.	(Stammzellenleuk.)	0,17
Pat. N.	(Stammzellenleuk.)	0,36
Pat. L.	(wie 6)	0,73
Pat. Sch.	(Stammzellenleuk.)	0,23
Mittelwert		0,42

Glutamins. DH

Pat.	Leuko FE/1 Million
Pat. G.	0,0012
Pat. W.	0,0077
Pat. M.	0,0100
Pat. H.	0,0058
Pat. S.	0,0052
Pat. Wo.	0,0052
Pat. St.	0,0085
Pat. B.	0,0250
Mittelwert	0,00857

Pat. B.	(myel. Leuk.)	0,0009
Pat. G.	(myelobl. Leuk.)	0,0020
Pat. R.	(myel. Leuk.)	0,0071
Pat. R.	(myel. Leuk.)	0,0270
Pat. M.	(myel. Leuk.)	0,0080
Pat. L.	(myel. Leuk.)	0,0060
Pat. L.	(myel. Leuk.)	0,0049
Pat. S.	(ak. lymph. Leuk.)	0,0100
Pat. E.	(Stammzellenleuk.)	0,1700
Pat. N.	(Stammzellenleuk.)	0,0021
Pat. L.	(wie 6)	0,0130
Pat. Sch.	(Stammzellenleuk.)	0,0041
Mittelwert		0,00850

MDH

Pat.	Leukocyten FE/I Mill.
Pat. Z.	2,59
Pat. T.	1,30
Pat. B.	2,65
Pat. Bl.	1,01
Pat. Bö.	2,06
Pat. W.	1,12
Pat. K.	1,04
Pat. H.	1,15
Pat. P.	0,92
Pat. L.	1,20
Pat. A.	1,87
Pat. H.	1,17
Mittelwert	1,54
Pat. E. (lymph. Leuk.)	0,49
Pat. St. (myel. Leuk.)	0,80
Pat. D. (myel. Leuk.)	0,41
Pat. G. (myelobl. Leuk.)	0,31
Pat. R. (myel. Leuk.)	0,98
Pat. M. (myel. Leuk.)	0,33
Pat. L. (myel. Leuk.)	0,94
Pat. S. (akut. lymph. Leuk.)	0,31
Pat. E. (Stammzellenleuk.)	0,94
Pat. R. (wie 5)	1,28
Pat. L. (wie 7)	0,52
Pat. N. (Stammzellenleuk.)	0,93
Pat. L. (wie 7)	0,71
Pat. Sch. (Stammzellenleuk.)	0,12
Mittelwert	0,64

Diskussion

Unsere Ergebnisse bezüglich der herabgesetzten Fermentaktivität der MDH in leukämischen Leukocyten stimmen mit vorhergehenden Versuchen, die an unserem Institut durchgeführt wurden, überein. (18). Es überrascht, daß die von uns getesteten Fermente Aldolase und das phosphatübertragende Ferment (PÜ I) ebenfalls eine deutlich erniedrigte Fermentaktivität bei Leukämikern zeigen. Die Ergebnisse der Fermentaktivität der Glutaminsäuredehydrase zeigen zwar für Gesunde und Leukämiker nur geringe Unterschiede, doch ist die GSDH-Aktivität in Leukocyten an sich sehr niedrig und der Test nicht empfindlich genug. Es ist daher wahrscheinlich, daß auch dieses Ferment bei leukämischen Prozessen verminderte Aktivität zeigt. Auf Grund der Ergebnisse läßt sich der Abfall der FE-Aktivität für MDH, Aldolase, Glutaminsäuredehydrase und auch für PÜ I nicht durch ein verändertes Differentialblut erklären. Dazu sind die Unterschiede der FE bei den einzelnen Leukämieformen nicht wesentlich genug. Unreife Zellen zeigen manchmal höhere FE-Aktivitäten als reife. Wie die Tabellen zeigen, macht das phosphatübertragende Ferment PÜ I hier eine Ausnahme. Hier zeigen sämtliche Stammzellenleukämien durchwegs niedrigere Fermentaktivitäten als die myel. Leukämien. Aber auch dieses Ergebnis müßte erst noch durch längere nachfolgende Versuchsreihen gesichert werden. Es gibt auf Grund unserer Untersuchungen keinen genauen Anhalt dafür, daß eine direkte Beziehung zwischen Fermentaktivitäten der Leukocyten und der Höhe der Leukocytenzahlen besteht. In dieser Richtung müßten ebenfalls weitere Untersuchungen angestellt werden.

Fraglich ist auch der Einfluß irgendwelcher Therapie auf das Verhalten der Fermentaktivität aller getesteten Fermente. Wir konnten in zwei im Abstand von einem Monat angestellten Versuchen bei einer chron. myel. Leukämie für MDH, Aldolase, GSDH und PÜ I einen leichten FE-Aktivitätsanstieg während der Behandlung feststellen. Fall 5 wurde mit Myleran (4 mg pr. die) behandelt. Leider konnten wir bei Fall 7 dieses Ergebnis nicht bestätigen. Wie die Tabellen zeigen, erbrachten hier im Gegenteil unsere Untersuchungen, daß trotz Behandlung mit Myleran (2 x 1/2 Tbl. täglich) ein geringfügiger Abfall der Fermentaktivitäten aller von uns getesteten Fermente zu verzeichnen war.

Der generelle Befund einer herabgesetzten Fermentaktivität bei Leukämikern überrascht, da seit den Untersuchungen Warburgs bekannt ist, daß Tumor- und embryonales Gewebe eine, gesteigerte anaerobe Glycolyse zeigen. Da wie bekannt ist, bei leukämischen Leukocyten die anaerobe Glycolyse ebenfalls abfällt (Abnahme der Fermentaktivität leukämischer Leukocyten), ist sehr wahrscheinlich der leukämische Stoffwechsel ein anderer, als der der Tumorzellen. Auf Grund unserer Befunde kamen wir zu der Vermutung, daß infolge einer Permeabilitätsstörung der Leukämiezellen ein Fermentverlust eintritt. Für diese Hypothese spricht die teilweise sehr erhöhte FE-Aktivität aller unserer getesteten Fermente im Serum leukämischer Kranker. Eine andere Erklärung wäre, daß Leukämiezellen weniger Eiweiß und damit weniger Ferment enthalten als normale. Ich bin überzeugt, daß eine Fortführung der von uns angestellten Versuche mit noch feineren Methoden und im größeren Stile aufschlußreiche Einblicke in das Stoffwechselgeschehen der Leukocyten bringen wird.

Zusammenfassung

Zur Untersuchung kamen 31 Gesunde und 11 Leukämiker (ak. und chron. Myelose, Lymphadenose, Stammzellen - und Myeloblastenleukämie). Die Trennung von Leukozyten und Erythrozyten wurde nach einem von Dr. Erhardt (1. Med. Klinik der Univ. München) entwickeltem Verfahren durchgeführt. Unsere Untersuchungen ergaben eine deutliche Herabsetzung der FE-Aktivitäten in Leukocyten von MDH, Aldolase und PÜ I bei Leukämikern. Die GSDH-Werte zeigten keine signifikanten Unterschiede. Beziehungen zwischen Leukocytenzahl und Fermentaktivitäten einerseits und Differentialblutbild und FE-Aktivitäten andererseits scheinen nicht gesichert. Eine Ausnahme bildet die Beziehung zwischen dem Differentialblutbild und FE-Aktivität bei PÜ I. Ebenso weisen unsere Untersuchungen nicht exakt auf eine Beeinflussung der FE-Aktivitäten durch irgendeine Therapie hin. Es ist als sicher anzunehmen, daß leukämische Zellen nicht dem Tumorstoffwechseltyp entsprechen.

Herrn Privat-Dozent Dr. H. STUHLFAUTH sowie Herrn Professor Dr. W. SEITZ danke ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas sowie für die Übernahme des Referates.

Frau Dr. A. ENGELHARDT sei für die wertvolle Unterstützung und Beratung, Frau Dr. I. WOLLER für ihre liebe Hilfsbereitschaft herzlich gedankt.

Literaturverzeichnis

- 1) Grave, E., Dtsch. Arch. Klin. Med. 102, 406, 1911
- 2) Warburg, O. Über den Stoffwechsel der Tumoren; Springer, Berlin 1926.
- 3) Lepine, R. und Barral: C. Rend. Soc. Biol. Paris 1891, 271.
- 4) Bakker, A. Inaug. Diss. Groningen 1926. Klin. Wschr. 6, 252, 1933.
- 5) Schmitz, H.C. und E.C. Glover. J. Biol. Chem. 74, 761, 1927
- 6) Fleischmann, W. und F. Kubowitz: Bioch. Z. 181, 395, 1927
- 7) Dalland, G. A. und Isaacs: J. Exp. Med. 46, 53, 1927.
- 8) Jackson, H.F. Parker u. E. C. Glover: J. Exp. Med. 52, 547, 1930
- 9) Kemptner, W. und E. Peschl: Z. Klin. Med. 114, 439, 1930
- 10) Willstätter u. M. Rhodewald: Z. Physiol. Chem. 203, 189, 1931
209, 33, 1932; 221, 13, 1933; 247, 115, 1937.
- 11) Brückel, K.W. und W. Remmele: Z. f. Vitamin/Hormon/ Fermentforschung, 6, 56, 1954
- 12) Keibl, E. u. K. H. Spitzzy: Arch. Exp. Path. Pharmac. 213, 162, 365, 1951
- 13) Bird, R. M.; J. Clements u. L. N. Becker; Cancer Res. 4, 1009, 1951
- 14) Wagner, R.: Arch. Biochem. 26, 123, 1950
Wagner R. u. S. E. Reinsteint: Arch. Biochem. 29, 260, 1950
Wagner R. u. A. Jourke; Arch. Biochem. Biophys. 39, 174, 1952.
- 15) Beck, W. W. und W. N. Valentine: Cancer Res. 13, 309, 1953
Cancer Res. 12, 218, 1952
Cancer Res. 12, 823, 1952

- 16) Remmele, W. Acta Haematol. 13, 103-123, 1955
- 17) Dr. Erhardt: 1. Med. Klinik, München: nicht veröffentlicht.
- 18) Senicas: Inaug. Diss. Med. Polikl. d. Univ. München.
- 19) Warburg, O. U. W. Christian u. F. Grise. Biochem. Z. 282, 157, 1935
- 20) Kubowitz, F. u. P. Ott: Biochem. Z. 314, 94, 1943
- 21) Beisenherz G.; H. H. Boltze; Th. Bücher; R. Grok; K. H. Gavarde; E. Meyer-Arendt; G. Pfeleiderer: Z. f. Naturf. 8, 555, 1953

Lebenslauf

Ich, Wolfgang Wigge, wurde als Sohn des Elektromeisters Anton Wigge und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Rothkirch, in Langendorf Kreis Neisse/Schlesien am 16. 3. 1930 geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule wechselte ich Ostern 1940 in die Städtische Oberschule in Bad Ziegenhals/Schlesien über.

Januar 1945 mußten wir unter dem Druck der damaligen Kriegsverhältnisse unsere Heimat Schlesien verlassen. Im März 1951 bestand ich am Städt. Neusprachlichen Gymnasium zu Paderborn/Westfalen das Abitur.

Im Herbst 1951 immatrikulierte ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität München als erstes Semester für die Medizinische Fakultät. Nach 11-semesteriger Ausbildung beendigte ich das Studium der Medizin mit der Ablegung des Med. Staatsexamens an der Ludwig-Maximilians-Universität München.

